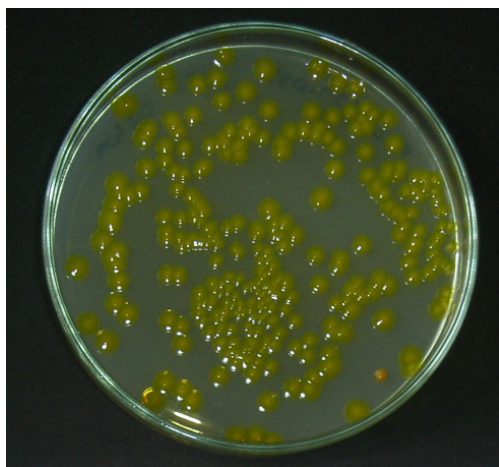


Foto: Bruna Macedo Almeida



Toxicidade de Agrotóxicos para Bactérias Endofíticas Diazotróficas Isoladas de Cultivares de Arroz Irrigado

Maria Laura Turino Mattos¹
Paulo Ricardo Reis Fagundes²
Bruna Macedo Almeida³

A orizicultura praticada no Rio Grande do Sul incorpora o uso intensivo de fertilizantes e de agrotóxicos para o controle de pragas, elevando os custos de produção e aumentando os riscos ambientais nas áreas de produção. A aplicação de agrotóxicos, de ação sistêmica ou de contato, residuais ou seletivos, pode resultar na acumulação de resíduos ou de metabólitos nos recursos edáficos, hídricos e nos grãos. Em solos de terras baixas do Bioma Pampa existe uma rica diversidade de espécies bacterianas degradadoras de agrotóxicos, com predominância do gênero *Pseudomonas* (MATTOS et al., 2003). Porém, há um desconhecimento sobre a capacidade de degradação de agrotóxicos por bactérias endofíticas diazotróficas (BED) isoladas de cultivares de arroz irrigado.

Este trabalho teve como objetivo determinar a

toxicidade de agrotóxicos aplicados em pulverizações de arrozais e no tratamento de sementes de arroz, por BED inoculadas às sementes, visando à promoção do crescimento das plantas (PCP), por meio da concentração mínima inibitória (CMI). Selecionaram-se dez acessos de BED (CMM 172, 173, 175, 177, 178, 179, 180, 182, 195, 197) isolados dos colmos das cultivares de arroz BRS Pelota e BRS-7 Taim (MATTOS et al., 2010), preservados na Coleção de Microrganismos Multifuncionais de Clima Temperado.

Os seguintes agentes-teste (AT) foram utilizados: (1) formulação comercial (f.c.) contendo 360 g L⁻¹ do ingrediente ativo (i.a.) clomazona; (2) f.c. contendo 500 g L⁻¹ do i.a. clomazona; (3) f.c. contendo 250 g L⁻¹ do i.a. fipronil; (4) f.c. contendo 75 g L⁻¹ e 25 g L⁻¹ dos i.a. imazetapir e imazapique; (5) i.a. clomazona; (6) i.a. fipronil.

¹Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Ciência do Solo, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, maria.laura@embrapa.br

²Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Melhoramento de Plantas, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, paulo.fagundes@embrapa.br

³Graduanda em Farmácia, bolsista do CNPq, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, RS, bruninhahmacedo@hotmail.com.

Dois métodos em função da solubilidade dos AT foram empregados: (1) diluição seriada dos AT (1, 2, 4 e 5) em caldo nutritivo, conforme Gilbert e Al-Tae (1985); (2) diluição seriada dos AT (3 e 6) por disco-difusão, conforme NCCLS (2003). Avaliaram-se as concentrações de 1/1024–1/2 mg L⁻¹ de cada AT, em duplicata. A suspensão-inóculo de cada acesso foi ajustada para 10⁹ UFC mL⁻¹.

No método 1, os tubos foram inoculados com 0,1 mL de suspensão bacteriana e incubados a 28 °C por 24 h (Figura 1). No método 2, as suspensões bacterianas foram inoculadas em placas contendo meio Ágar Mueller-Hinton, em que se aplicaram os discos de papel filtro de fibra de vidro, impregnados pelas diluições de cada AT, incubando-se a 35 °C por 18 h (Figura 2). Como controle negativo para o crescimento bacteriano, utilizou-se uma solução de sulfato de estreptomicina na concentração de 30 µg mL⁻¹ (Figura 3).

A interpretação dos resultados foi baseada na turvação do meio de cultura. Realizou-se a confirmação por meio do plaqueamento das diluições em meio ágar nutritivo (método 1) e pela formação de halos de inibição uniformemente circulares (método 2). Esse procedimento serviu para indicar as concentrações que inibiram o crescimento das BED.

Interpretaram-se os resultados pela turvação do meio de cultura e confirmação por meio do plaqueamento das diluições em meio ágar nutritivo (método 1) e pela formação de halos de inibição uniformemente circulares (método 2), que indicaram as concentrações que inibiram o crescimento dos acessos bacterianos.

Observou-se que 100% das BED foram resistentes a todos os ATs até a concentração de 128 mg L⁻¹. A partir dessa concentração, somente os acessos CMM 172, 175, 178 e 179 foram resistentes a todos os ATs, enquanto houve uma atividade inibitória para CMM 173, 177, 180, 182, 195 e 197 dos AT 2 e 4 (Tabela 1). Apenas o AT 2 apresentou maior susceptibilidade aos acessos nas concentrações de 512 e 1024 mg L⁻¹.

O agente-teste clomazona é um herbicida do grupo dos inibidores do desenvolvimento dos cloroplastos,

afetando o acúmulo de pigmentos dos plastídeos nas espécies susceptíveis (RODRIGUES, 1995). Uma formulação comercial contendo clomazona testada para uma espécie de *Pseudomonas* cepa CLZG1 e *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 587 e SEMIA 5019, mostrou menor potencial de ação de toxicidade deste i.a. pelo efeito diluição. Os maiores valores de concentração mínima inibitória do AT foram obtidos para a cepa CLZG1 do que para *B. japonicum* SEMIA 587 e 5019. A atividade inibitória do clomazona para SEMIA foi observada a partir da concentração de 8 ppm (MATTOS; THOMAS, 1997).

Os resultados evidenciam que o AT 2 pode influenciar a eficiência de uma inoculação de sementes de arroz com bactérias endofíticas diazotróficas visando à promoção do crescimento de plantas. Com base nessa informação, os produtores podem selecionar herbicidas compatíveis com o uso de inoculantes comerciais para gramíneas.

Recomendação técnica

Os agentes-teste em concentrações até 128 mg L⁻¹ não inibem a eficiência de inoculantes à base de bactérias endofíticas diazotróficas.

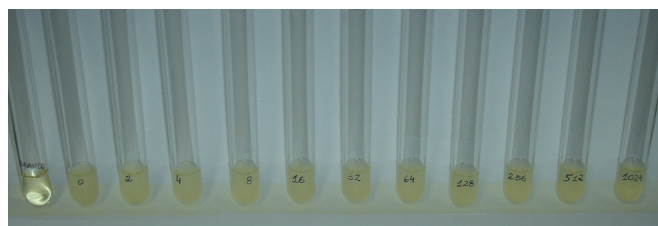


Figura 1. Diluição seriada dos agentes- teste em caldo nutritivo (método 1). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. 2013.

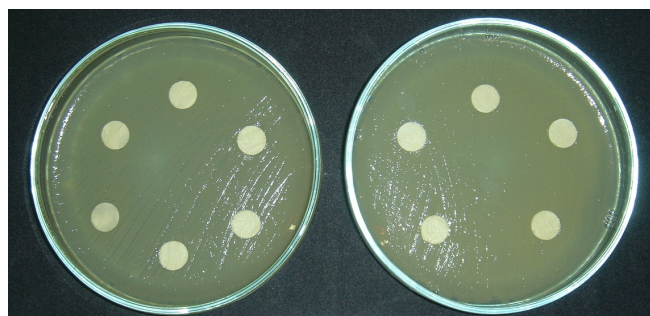


Figura 2. Diluição seriada dos agentes-teste por disco-difusão. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. 2013.

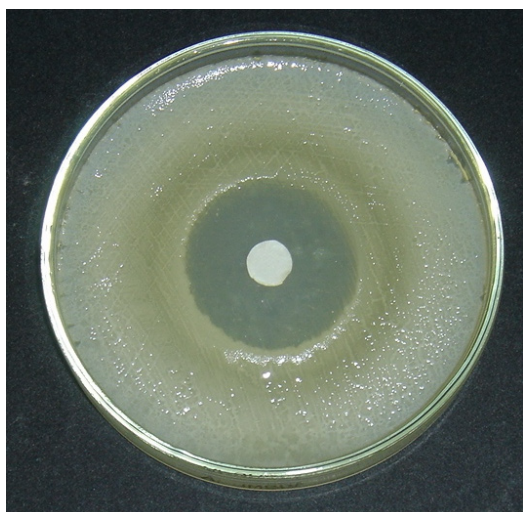


Figura 3. Controle negativo com solução de sulfato de estreptomicina (método 2). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. 2013.

Tabela 1. Concentração mínima inibitória dos agentes-teste para acessos endofíticos diazotróficos. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. 2013.

Concentração (mg L ⁻¹)	CEM 112	CEM 115	CEM 116	CEM 117	CEM 118	CEM 119	CEM 120	CEM 121	CEM 122	CEM 123	CEM 124	CEM 125	CEM 126	CEM 127	Agente-teste
0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6
16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6
32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6
64	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6
128	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6
256	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6
512	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6
1024	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6

*Agentes-teste: (1) formulação comercial (f.c.) contendo 360 g L⁻¹ do ingrediente ativo (i.a.) clomazone; (2) f.c. contendo 500 g L⁻¹ do i.a. clomazone; (3) f.c. contendo 250 g L⁻¹ do i.a. fipronil; (4) f.c. contendo 75 g L⁻¹ e 25 g L⁻¹ dos i.a. imazetapir e imazapique, (5) i.a. clomazone; (6) i.a. fipronil.

REFERÊNCIAS

- GILBERT, P.; AL-TAAE A. Antimicrobial activity of some alkyltrimethylammonium bromides. **Letters in Applied Microbiology**, v. 1, n. 1, p. 101-104, June 1985.
- MATTOS, M. L. T.; FAGUNDES, P. R. R.; SANTOS, I. B. dos; ALMEIDA, B. **Fixação biológica de nitrogênio na cultura do arroz irrigado por inundação**. Parte I: bactérias endofíticas diazotróficas isoladas das cultivares BRS-7 Taim e BRS Pelota. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 22 p. (Embrapa Clima Temperado, Documentos, 303).
- MATTOS, M. L. T.; SANTOS, S. C. A.; MARTINS, F. S.; SANTOS, F. O. Diversidade bacteriana em solos hidromórficos de ecossistemas de terras baixas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 24., 2003. Ribeirão Preto. **Anais...** Jaboticabal: UNESP, 2003.
- MATTOS, M. L. T.; THOMAS, R. W. S. P. Concentração mínima inibitória de uma formulação comercial de clomazone para *Pseudomonas* sp. cepa CLZG1 e *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 587 e 5019. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2., 1997. Rio de Janeiro, RJ. **Anais...** Rio de Janeiro: SBM, 1997. p. 177.
- NCCLS. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**; approved standard—eighth edition. Wayne, Pennsylvania, USA, 2003. 56 p. (NCCLS document M2-A8).
- RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. de. **Guia de herbicidas**. 3. ed. Londrina: [s.n.], 1995. 675 p.

**Comunicado
Técnico, 305**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Clima Temperado

Endereço: BR 392, Km 78 CEP: 96010-971

Caixa Postal 403, Pelotas, RS

Fone/fax: (53) 3275-8100

E-mail: cpact.sac@embrapa.br

1ª edição

1ª impressão 2013: 50 exemplares

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

BRASIL
GOVERNO FEDERAL
PAÍS RICO E PAÍS SEM POBREZA

**Comitê de
publicações**

Presidente: Ariano Martins de Magalhães Júnior

Secretária- Executiva: Bárbara Chevallier Cosenza

Membros: Márcia Vizzoto, Ana Paula Schneid Afonso,
Giovani Theisen, Luis Antônio Suita de Castro, Flávio Luiz
Carpena Carvalho

Expediente

Supervisor editorial: Antônio Luiz Oliveira Heberlê

Revisão de texto: Ana Luiza B. Viegas

Revisão bibliográfica: Marilaine Schaun Pelufê

Editoração eletrônica: Renata Abreu Serpa (estagiária)